同位体希釈 GC/MS による環境サンプル中のブチルスズ化合物の測定

アプリケーション

環境

著者

Giuseppe Centineo, Pablo Rodriguez-Gonzalez, and
J. Ignacio Garcia Alonso
Department of Physical and Analytical Chemistry
University of Oviedo
Spain

要約

電子イオン化を搭載した GC/MS を使用して、環境サンプル (水、堆積物、生物相) 中のモノブチルスズ、ジブチルスズ、トリブチルスズの同時測定のためのスペシエーションメソッドを開発しました。このメソッドは、同位体希釈分析のために ^{119}Sn を濃縮したモノブチルスズ (MBT)、ジブチルスズ (DBT)、トリブチルスズ (TBT) を含む混合スパイクの使用に基づいています。水、堆積物、イガイ組織サンプル中の MBT、DBT、TBT の同時測定に、混合 ^{119}Sn 濃縮スパイクを適用し、満足できる結果が得られました。一回の注入で、サンプル中の 3 種類のブチルスズ化合物すべての濃度を、標準的な表計算ソフトウェアを用いて迅速に計算することが可能になります。

緒言

近年、EU は淡水の定期的測定対象化合物リストに TBT を記載しました。そのため、有機スズ化合物の測定用メソッドは、検査ラボで日常的に適用されるに十分な感度、選択性、精度を提供する必要があります。最も多く報告されたメソッドは、ガスクロマトグラフィー (GC) などの分離手法を、原子吸光分析法 (AAS)、炎光光度検出法 (FPD)、質量分析法 (MS)、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を含む元素固有の検出システムに組み合わせたものです。

一方、同位体希釈 (ID) 法では、一般的なキャリブレーションを用いる方法と比較し優れた真度と精度を実現できます。最初の固液抽出段階が定量的か、追加スパイクと測定対象化合物の間の真の同位体平衡が達成された場合、優れた真度と精度を併せ持つ結果が得られます。定量は比率の測定で行われるため、生じた非定量測定対象成分の回収率は最終結果に影響を及ぼしません。微量元素スペシエーションのための同定は、HPLC または GC 分離後に ICP-MS を用いて、幅広く行われてきました。しかし、ICP-MS は費用がかかり、一般的に使用できる装置ではありません。代わりに、電子衝撃型イオン源を用いた標準的な GC/MS 装置で同様の結果が得られました。このアプリケーションノートでは、検査ラボで日常的に適用できる分析メソッドについて説明します。

実験

試薬

塩化トリブチルスズ (TBT、96%)、二塩化ジブチルスズ (DBT、96%)、三塩化モノブチルスズ (MBT、95%) は、Aldrich (ドイツ、Stenheim) から入手しました。原液は、対応する塩を 3:1 の酢酸 (Merck、ドイツ、Darmstadt) /メタノール (Merck) 混合物に溶解して調製しました。すべての有機金属標準溶液は -18 °C の暗所で保管し、希釈標準溶液は分析前に毎日、重量ベースで調製されました。固体マトリクスからの有機スズ化合物の抽出には、酢酸 (Merck) とメタノール (Merck) を使用しました。テトラエチルホウ酸ナトリウム (Galab、ドイツ、Geesthacht) を用いて、ブチルスズ類のエチル化を行いました。

スパイク溶液 (^{119}Sn 濃縮ブチルスズ混合物) は ISC-Science (スペイン、Oviedo) から入手し、メタノールと酢酸 (3:1) の混合物を用いて重量ベースにより希釈し、-18 °C の暗所で保管しました。

表 1. ^{119}Sn 濃縮ブチルスズ混合物中の MBT、DBT、TBT の同位体組成と濃度 (不確かさは 95% の信頼区間に対応)

同位体組成					
同位体	116	117	118	119	120
存在率 (%)	0.029	0.114	14.33	82.40	3.127
不確かさ	0.008	0.005	0.12	0.15	0.032
濃度 (µg Sn/g)					
MBT	**DBT**		**TBT**		
0.121 ± 0.005	0.748 ± 0.009		1.019 ± 0.017		

表 1 には、同位体組成の他、スパイク溶液中のブチルスズ類の濃度を示します。検査された対照物質は、National Research Council of Canada (NRCC) (オタワ) から入手した PACS-2 と、Bureau Communautaire de Reference (BCR) から入手した CRM 477 です。海水と淡水サンプルは、回収率を確認するために、自然存在比のブチルスズ化合物でスパイクしました。

装置

スプリット/スプリットレス注入口と HP-5MS キャピラリカラム (架橋型 5% フェニルメチルシロキサン、30 m × 内径 0.25 mm x 0.25 µm 膜厚) を搭載した、Agilent 6890N ガスクロマトグラフと Agilent 5973 ネットワーク GC/MSD (四重極型) で分析を行いました。

キャリアガスとして、ヘリウムを用い、1.2 mL/min の定流量で行いました。カラム温度は、最初 60 °C で 1 分間保持し、30 °C/min で 300 °C の最終温度に昇温しました。注入は、スプリット/スプリットレス注入口を用いスプリットレスモードで行いました。トランスファラインとイオン源の温度は、それぞれ 280 °C と 230 °C としました。電子イオン化は、70 eV の電子エネルギーで行いました。スペクトル干渉を確認するために、*m/z* 40 ～ 400 の質量範囲をフルスキャンモードで測定しました。各ブチルスズ化合物の同位体比測定は、質量あたり 10 ms のデュエルタイムを用いて、M-29 のイオン (エチル基の脱離に相当) で行いました。各ブチルスズ化合物の選択イオン検出 (SIM) には、5 つの *m/z* 値を使用しました。GC/MS 条件の最適化は、GC/MS 装置とともに提供されるソフトウェアの「オートチューン」オプションを用いて行いました。*m/z* 31、50、69、100、131、219、264、414、464、502、576、614 のイオンを生じるため、すべての GC/MS オートチューンのチューニング用化合物として用いられるペルフルオロトリブチルアミン (PFTBA) を使用しました。このオプションを用いて、質量範囲全体にわたる質量キャリブレーションと感度最適化を *m/z* 69、219、502 で行いました。

手順

堆積物からの有機スズ化合物の抽出と誘導体化

MBT、DBT、TBT の ^{119}Sn 濃縮混合物の希釈溶液を用いて、約 0.2 g のサンプルにスパイクしました。酢酸/メタノール (3:1) の混合物 4 mL をすぐに加えました。結果として生じたスラリーを、8 分間、超音波 (30 W) にかけました。下記のとおり、抽出物の 200 µL を誘導体化しました。

イガイ組織からの有機スズ化合物の抽出と誘導体化

MBT、DBT、TBT の ^{119}Sn 濃縮混合物の希釈溶液を用いて、約 0.2 g のサンプルにスパイクしました。酢酸/メタノール (3:1) の混合物 4 mL をすぐに加えました。結果として生じたスラリーを 1 時間、37 °C の水槽で加熱しました。下記のとおり、抽出物の 250 µL を誘導体化しました。

スズ化合物の誘導体化

スズ化合物のエチル化は、スクリューキャップ付きの 7 mL の透明バイアル (Supelco、ペンシルベニア州 Bellefonte) の中で行いました。pH は、1 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 4 mL で 5.4 に調整しました。エチル

化は、2% w/v テトラエチルホウ酸ナトリウムの 0.1 M NaOH 水溶液 0.5 mL を用いて行いました。10 分の振とう後、有機層をガラスバイアルに移し、測定まで -18 °C で保管しました。その後、有機層は窒素気流下で約 10 µL まで蒸発させました。最終的に、1 µL を GC に注入しました。

水サンプルからの有機スズ化合物の抽出と誘導体化

海水 100 mL のサンプルは事前に洗浄した全ガラス製のメスフラスコで計量し、混合 ^{119}Sn 濃縮スパイクの希釈溶液で混合しました。容積誤差を補正するために、サンプルと加えたスパイクの量は重量測定を行い管理しました。スパイクしたサンプルは手動で振とうし、誘導体化の前に平衡状態とするために 15 分間放置しました。次に、pH を 5.4 に調整するための酢酸緩衝液 1 mL を、また有機スズ化合物とエチル化のために 2% w/v テトラエチルホウ酸ナトリウムの 0.1 M NaOH 水溶液 100 µL を加えました。最終的に、フラスコの細い首部に残るような形で、ヘキサン 1 mL をフラスコに加えました。これの作業をクリーンルーム条件下で行うとブランクレベルを下げることができると思われます。メスフラスコを 10 分間振とうし、相が分離されるまで放置し、有機層の大部分をパスツールピペットを用いて 2 mL のクロマトグラフ用バイアルに移しました。その後、ヘキサン層を窒素気流下で約 10 µL まで蒸発させました。最終的に、1 µL を GC に注入しました。

結果と考察

GC/MS による同位対比測定

ICP-MS を用いると元素同位対比を簡単に入手できますが、GC/MS では、金属が結合した有機官能基中の ^{13}C の寄与により、分子イオンの同位体パターンは天然起源元素のパターンと異なります。以下の式 1 と 2 を適用することで、測定 m+1 と m+2 イオンへの ^{13}C の寄与を計算できます。

$$I_{m+1} = I_m \cdot nX_{13C} \quad (1)$$

$$I_{m+2} = I_m \cdot 1/2 \cdot n(n-1)^2 \cdot X^2{}_{13C} \quad (2)$$

ここで x_{13C} は、^{12}C に対する ^{13}C の相対存在比 (0.0111/0.9899) で、n は分子イオン中の C 原子の数で、I はイオン m、m+1、m+2 それぞれの強度です。ブチルスズ化合物の m+1 と m+2 に対する寄与は、^{116}Sn、^{117}Sn、^{118}Sn、^{119}Sn、^{120}Sn 同位体に対応する、各測定対象化合物における 5 つの分子イオンをモニタリングすることで補正されます。さまざまな質量の測定シグナル強度は、m+1 と M+2 への ^{13}C 寄与を考慮に入れて補正しました。使用された強度 (I) 補正式は以下のとおりです。

$$^{116}Sn = {}^{116}I \quad (3)$$

$$^{117}Sn = {}^{117}I - x(^{116}Sn) \quad (4)$$

$$^{118}Sn = {}^{118}I - x(^{117}Sn) - y(^{116}Sn) \quad (5)$$

$$^{119}Sn = {}^{119}I - x(^{118}Sn) - y(^{117}Sn) \quad (6)$$

$$^{120}Sn = {}^{120}I - x(^{119}Sn) - y(^{118}Sn) \quad (7)$$

ここで x は寄与因子 m+1 で、y は寄与因子 m+2 です。自然存在比が非常に低いため、^{114}Sn と ^{115}Sn の寄与は無視でき、そのため、^{116}Sn に対して測定されたシグナル強度は、m+1 と m+2 の寄与がないと考えることができます。GC/MS による MBT、DBT、TBT の測定のために選択分子クラスタと寄与因子 x と y を、表 2 に示します。サンプル、スパイクおよび混合物中の TBT (*m/z* = 287 ～ 291) に対する選択された分子クラスタは図 1 で確認できます。

表 2. MBT、DBT、TBT に関してモニタリングした質量と寄与因子

対応するスズ同位体	MBT ($BuEt_2Sn^+$)	DBT (Bu_2EtSn^+)	TBT (Bu_3Sn^+)
116	231	259	287
117	232	260	288
118	233	261	289
119	234	262	290
120	235	263	291
x (M + 1)	0.088	0.110	0.132
y (M + 2)	0.0038	0.0060	0.0086

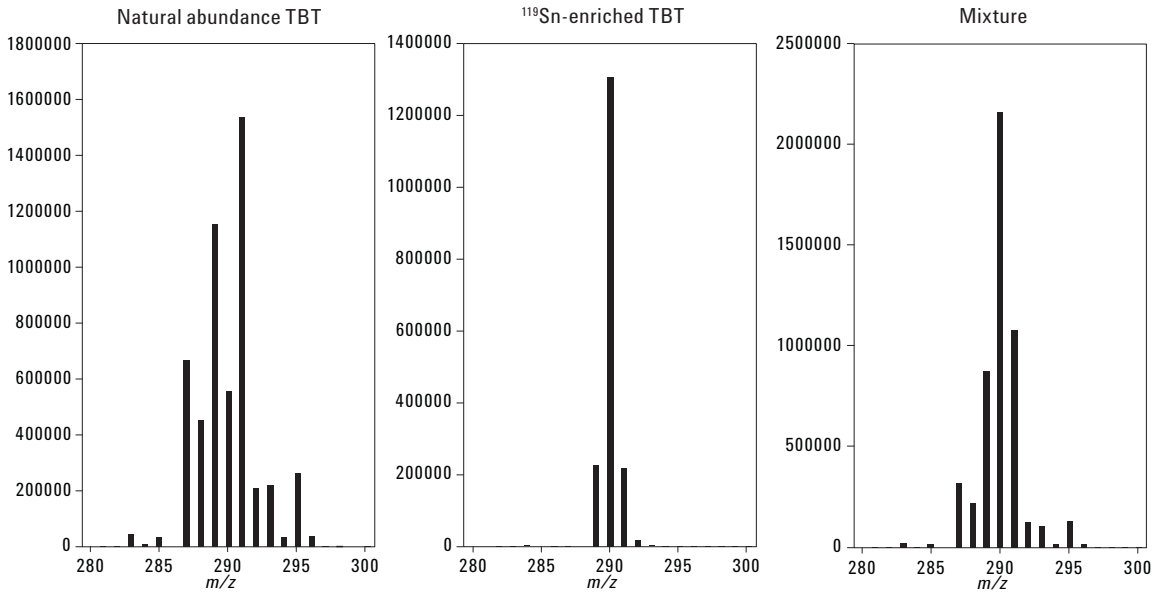

図 1. サンプル、スパイク、混合物中の選択した分子クラスタ (*m/z* = 287 ～ 291) の TBT マススペクトル

メソッドの分析特性

メソッドの分析特性は、表 3 に記載しました。メソッド検出下限は、同位体希釈分析の後、「手順」で説明した方法により、同等の 9 つのブランクサンプル中の MBT、DBT、TBT の濃度測定後に、ブランクサンプルの標準偏差の 3 倍として計算しました。メソッドの再現性は、約 10 ng/kg の TBT を含む天然海水サンプルを分析することで測定しました。海水分析での回収率は、実際のサンプルで検出される可能性のある濃度範囲を対象とするために、3 つの異なる濃度で行いました。2 つの高濃度サンプルは MBT、DBT、TBT 標準溶液を沿岸海水の実際のサンプル (ブチルスズの含有量が少ない) に添加することで得られ、低濃度サンプルは人工海水サンプルに天然標準サンプルを加えることで得られました。測定したすべての濃度で、すべての化合物に対して定量的な回収率が得られました。

標準物質の分析

提案された同位体希釈法で、堆積物 (PACS-2) とイガイ組織 (CRM 477) の 2 つの標準物質中のモノ-、ジ-、トリブチルスズを測定しました。各認証済み標準物質で 3 つの個別スパイク実験が行われ、各サンプルは GC-MS システムに 3 回注入しました。GC/MS による 2 つの基準物質に対して得られた全体の結果は、表 4 (PACS-2) と表 5 (CRM 477) に示しました。

PACS-2 (表 4) に対して得られた TBT と DBT の濃度値は、保証された範囲内でした (TBT に対して 890 ± 105 ng/g と DBT に対して 1,047 ± 64 ng/g)。MBT に対して検出された値は、分析が行われた時点で、元の保証値 (450 ng g^{-1}) より大幅に高くなりました。最近、PACS-2 は MBT に関して再評価され、MBT に対する新しい「推奨値」は 600 ng/g で、このメソッド検出された値に近いものです。CRM-477 認証イガイ組織 (表 5) に対して得られた結果は、各個々のブチルスズ種に対する保証値と検出値の間に優れた一致を示しました。

表 3. 海水サンプル分析用メソッドの分析特性

			MBT	DBT	TBT
検出下限 (3 σ) (ng/Kg)			0.2	0.1	0.2
定量下限 (10 σ) (ng/Kg)			0.8	0.5	0.7
再現性 (% RSD) (n = 9)			1.4	1.6	2.8
回収率 (%)					
サンプル 濃度 (ng/Kg)					
人工海水	2	(n = 3)	98 ± 7	101 ± 2	102 ± 9
海水	20	(n = 3)	103 ± 3	97 ± 2	104 ± 1
海水	100	(n = 3)	101 ± 2	98 ± 2	101 ± 3

表 4. 定量のために 120/119 同位対比を用いた、PACS-2 中の MBT、DBT、TBT の測定 (データは Sn として ng/g 単位)

繰り返し測定	MBT	DBT	TBT
1	623 ± 2	1022 ± 7	872 ± 9
2	605 ± 4	971 ± 10	863 ± 2
3	617 ± 17	996 ± 1	849 ± 10
平均	**615 ± 9**	**996 ± 25**	**849 ± 10**
RSD (%)	1.5	1.5	1.5
認証値	600*	1047 ± 64	890 ± 105

* 個別メソッド不明のため参考値としてのみ記載

表 5. CRM-477 中の MBT、DBT、TBD の測定 (データは Sn として ng/g 単位)

繰り返し測定	MBT	DBT	TBT
1	1154 ± 9	761 ± 7	816 ± 6
2	1173 ± 18	766 ± 3	817 ± 2
3	1207 ± 19	787 ± 4	841 ± 2
平均	**1178 ± 27**	**772 ± 14**	**825 ± 14**
RSD (%)	2.3	1.9	1.7
認証値	1014 ± 182	786 ± 61	902 ± 78

結論

水、堆積物、イガイ組織中のモノ-、ジ-、トリブチルスズの同時測定のために、迅速、精密で、正確なメソッドが開発されました。^{116}Sn と ^{117}Sn に対応する質量での検出により、^{118}Sn、^{119}Sn、^{120}Sn 質量への ^{13}C の m+1 と m+2 寄与をシンプルな数式で補正することが可能になります。一度の注入で、時間のかかるキャリブレーション、標準サンプルの添加、回収率補正作業の必要なしに、サンプル中の 3 つのブチルスズ化合物すべての濃度を迅速に計算することが可能になります。このメソッドは、ブチルスズ化合物のスペシエーションにおいて考え得る誤差を補正し、極めて低い検出下限を提供し、さらには熟練していない分析者でもすぐに用いることができます。水サンプルの 1 回の測定には 2 ng 未満の濃縮化合物しか必要としないため、濃縮スパイクの価格は大きな問題にはなりません。つまり、ID-GC/MS 法は、GC/AED または GC/FPD などの測定方法にかわる実践的分析方法であるということができます。このメソッドにより得られた結果は、GC-ICP-MS の結果と同等です。

この方法のさらなる利点は、費用のかからない装置構成と高品質の分析結果だけでなく、サンプル前処理と分析両方の所要時間が短縮されることです。同位体希釈メソッドとオートサンプラを搭載した GC/MS を用いると、1 日あたり 1 人のオペレータで、15 以上のサンプルの準備、測定、分析レポートまで終えることができます。実際に、いくつかのルーチン検査ラボでこの方法を実施し、スペイン国内認定機関による UNE-EN ISO/IEC 17025 の要件に従った二次的な認定により、これらの利点が実証されました。

参考文献

G. Centineo, P. Rodríguez-González, E. Blanco González, J. I. García Alonso, and A. Sanz Medel, “Simultaneous Determination of Mono-, Di- and Tributyltin in Environmental Samples Using Isotope Dilution Gas Chromatography Mass Spectrometry,” *J. Mass Spectrom*, 2004, **39**, 485–494.

G. Centineo, P. Rodríguez-González, E. Blanco González, J. I. García Alonso, A. Sanz-Medel, N. Font Cardona, J. L. Aranda Mares, and S. Ballester Nebot, “Isotope Dilution GC-MS Routine Method for the Determination of Butyltin Compounds in Water,”*Anal Bioanal Chem*, 2006, **384**, 908–914.

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本資料に誤りが発見された場合、また、本資料の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。また、本資料掲載の装置類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本資料を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

© Agilent Technologies, Inc. 2007

Printed in Japan
July 23, 2007
5989-7001JAJP

Agilent Technologies